

УДК 612.014.4:591.044-591.17

## СОДЕРЖАНИЕ МИОКИНОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ ПОСЛЕ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗОК РАЗЛИЧНОГО ХАРАКТЕРА У СПОРТСМЕНОВ И НЕТРЕНИРОВАННЫХ ЛИЦ

© 2017 г. Л. В. Капилевич<sup>1,3,\*</sup>, А. Н. Захарова<sup>1</sup>, А. В. Кабачкова<sup>1</sup>,  
Т. А. Кироненко<sup>1</sup>, Е. Ю. Дьякова<sup>1</sup>, С. Н. Орлов<sup>1,2,4</sup>

<sup>1</sup>Национальный исследовательский Томский государственный университет

<sup>2</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

<sup>3</sup>Национальный исследовательский Томский политехнический университет

<sup>4</sup>Research Centre, Centre Hospitalier de l'Université de Montréal (CRCHUM), Montreal, Canada

\*E-mail: kapil@yandex.ru

Поступила в редакцию 14.09.2016 г.

Исследовалось влияние динамической и статической нагрузки на содержание миокинов в плазме у спортсменов силовых и циклических видов спорта, а также у нетренированных добровольцев. Показано, что спектр вырабатываемых миокинов зависит от характера нагрузок и уровня тренированности. Динамические и статические упражнения по-разному влияют на содержание миокинов в плазме крови спортсменов и нетренированных лиц. Физическая нагрузка циклического характера приводит к увеличению содержания *IL-6* и *IL-8* в плазме у спортсменов, нагрузка статического характера — к увеличению концентрации *IL-15* и *LIF*. В то же время в контрольной группе не регистрировалось увеличение содержания *IL-8* после циклической нагрузки и *IL-15* — после статической нагрузки. Обнаруженные различия могут иметь в своей основе целый ряд механизмов. Клеточный состав скелетных мышц и фенотипические особенности мышечных волокон, изменяясь в результате регулярных тренировок, могут модифицировать процессы продукции миокинов. Однако гораздо большее значение играют особенности транскрипционных механизмов в мышечных волокнах, среди которых наиболее значимыми являются *HIF-1 $\alpha$* ,  $[Ca^{2+}]_i$ ,  $[Na^+]_i/[K^+]_i$  — зависимые пути внутриклеточной сигнализации. Модификация этих механизмов под влиянием физических нагрузок различного характера и интенсивности представляет значительный интерес, так как является перспективным путем воздействия на процессы метаболизма как на клеточном, так и на системном уровне, что весьма актуально как для повышения спортивных результатов, так и для коррекции метаболических расстройств при целом ряде социально-значимых заболеваний.

**Ключевые слова:** миокины, интерлейкины, лейкопения, ингибирующий фактор, динамическая и статическая нагрузка, спортсмены.

**DOI:** 10.7868/S0131164617030079

Скелетные мышцы являются частью опорно-двигательного аппарата, обеспечивают двигательную деятельность, участвуют в процессах потребления и производства энергии [1]. Многочисленные группы исследователей выявили [2–5], что физические упражнения вызывают повышение содержания в плазме крови ряда цитокинов, в том числе фактора некроза опухолей *TNF- $\alpha$* , интерлейкинов *IL-1 $\beta$* , *IL-6*, *IL-8*, *IL-15*, и лейкопения-ингибирующего фактора (*LIF*). В настоящее время известно, что скелетные мышцы являются основным источником продукции *IL-6*, с чем связано возрастание его содержания в плазме крови после физической нагрузки [6]. Обнаружена транскрипция *IL-6mRNA* в ядрах мышечных клеток, выделенных из биоптатов человеческих

мышц после выполнения однократного упражнения [7]. Также для изучения продукции миокинов мышечными клетками использовались культуры миобластов мышечной культуры *C2C12*, и первичные человеческие миотубулы, которые подвергались электрической стимуляции (*EPS*). *EPS* широко используется для имитации модели мышечного сокращения *in vitro* для изучения производства миокинов мышечными клетками [8–10]. При использовании такого подхода, было показано, что через 24 ч после *EPS* в миотубулах человека происходит выработка 183 дифференцированных транскрипционных факторов, увеличение секреции *IL-6*, *IL-8*, хемокина *CXCL1* и *LIF* [11].

Существующие в настоящее время исследования показывают, что скелетные мышцы как эн-

Антропометрические данные участников исследования ( $X_{cp} \pm m$ )

Группа	Возраст (лет)	Рост (см)	Масса тела (кг)
ТА (тяжелая атлетика)	19.9 ± 1.4	177.0 ± 4.5	82.7 ± 10.2
ЛА (легкая атлетика)	20.8 ± 1.4	180.2 ± 6.2	73.2 ± 6.9
КГ <sub>1</sub> (контроль)	19.5 ± 0.7	183.2 ± 5.7	74.5 ± 4.75
КГ <sub>2</sub> (контроль)	20.2 ± 1.1	179.4 ± 3.1	69.8 ± 3.1

докринный орган способны продуцировать цитокины и другие пептиды [12]. По мнению многих исследователей, эти соединения могут быть классифицированы как миокины, которые оказывают различные физиологические эффекты на организм [13–15].

*IL-6* относится к числу наиболее известных воспалительных цитокинов. Он синтезируется активированными моноцитами/макрофагами, фибробластами, эндотелиальными клетками при воспалении, травмах, гипоксии, воздействии бактериальных эндотоксинов [16]. Биологическая роль *IL-6*, в первую очередь, заключается в индукции восстановительных механизмов и активации иммунной защиты. Кроме того, также известно угнетающее действие *IL-6* на воспалительную реакцию путем торможения синтеза фактора некроза опухоли  $\alpha$  (*TNF $\alpha$* ) [17].

В настоящее время установлена роль *IL-6* в регуляции обмена веществ. В жировых клетках *IL-6* усиливает оксидацию жира, а также стимулирует секрецию и активность липопротеинлипазы. В клетках печени *IL-6* способствует высвобождению глюкозы, стимулирует расщепление гликогена [15].

В мышечных клетках *IL-6*, наоборот, усиливает эффекты инсулина, стимулирует усвоение глюкозы. При физических упражнениях *IL-6* является медиатором продуцирования глюкозы. Исследования также показали, что *IL-6* может активировать *AMPK* для стимуляции липолиза и окисления жиров [13]. Таким образом, *IL-6* оказывает эндокринные эффекты, обеспечивая увеличение производства энергии через увеличение продукции глюкозы в печени и стимуляции липолиза в жировой ткани [18].

*IL-15* снижает отложение липидов в преадицитах и массу белой жировой ткани [19]. *LIF* индуцирует пролиферацию клеток, которые считаются необходимыми для гипертрофии и регенерации мышц [20, 21]. В связи с вышеизложенным в настоящее время широко обсуждается роль интерлейкинов и других миокинов в патогенезе и терапии метаболических нарушений, заболеваний сердечно-сосудистой системы, легких и опорно-двигательного аппарата [13, 22].

Следует отметить, что большая часть данных о продукции миокинов получены в исследованиях,

используемых циклические упражнения, в то время как данные о выработке миокинов при изометрических упражнениях ограничиваются несколькими работами [23–26]. Следует отметить, что при циклических (аэробных) упражнениях, таких как ходьба, бег и плавание, задействованы большие группы мышц, составляющие более двух третей от общей мышечной массы. В отличие от циклических упражнений, силовые и изометрические упражнения, как правило, включают локальные группы мышц, представляющие менее одной трети от общей мышечной массы.

Во время изометрических сокращений длина мышц не изменяется, что так же отличает их от нагрузок динамического характера. Статическая мышечная нагрузка быстрее вызывает развитие утомления, так как не включает фазу расслабления, в течение которой возможно пополнение энергетических ресурсов, расходуемых для сокращения мышц [27]. Мы не обнаружили исследований, в которых изучалось влияние предварительных тренировок на продукцию миокинов при статических и динамических нагрузках. Кроме того, важно учитывать и индивидуальные особенности изменения уровня миокинов в плазме после физических нагрузок. Известны данные, о том, что у двухсот участников марафона *Western States 160-km Endurance Run* содержание белка *IL-6* в плазме изменялась в пределах от 5 до 800 пг/мл [28].

В связи с изложенным, целью настоящей работы было исследование влияния динамической и статической нагрузки на содержание миокинов в плазме у спортсменов силовых и циклических видов спорта, а также у нетренированных добровольцев.

## МЕТОДИКА

В исследовании принимали участие здоровые юноши в возрасте от 18 до 23 лет. Основная группа 1 включала в себя 10 спортсменов, профессионально занимающихся тяжелой атлетикой (ТА). В основную группу 2 вошли 10 спортсменов легкоатлетов (ЛА), специализирующихся в беге на средние дистанции. Спортсмены основной группы 1 и 2 занимались избранным видом спорта более 6 лет. Антропометрические данные испытуемых представлены в таблице. Необходимым требованием для включения спортсменов в группы

исследования являлось наличие спортивного разряда не ниже кандидата в мастера спорта. Контрольная группа состояла из 20 человек, здоровых нетренированных волонтеров, не занимающихся спортом. Группа контроля была разделена на две подгруппы по 10 человек. Волонтеры первой подгруппы (КГ1) выполняли статическую нагрузку, волонтеры второй подгруппы (КГ2) – динамическую. Все испытуемые не момент исследования не имели острых и хронических заболеваний в анамнезе. Цель исследования участникам была разъяснена. Всеми было подписано информированное согласие на участие в исследовании и согласие на забор крови. На проведение исследования было получено разрешение этической комиссии Томского государственного университета (регистрационный номер 11 от 24 сентября 2015 г.).

Спортсмены тяжелоатлеты (ТА) и волонтеры (КГ1) в качестве статической нагрузки выполняли однократное удержание штанги на уровне ниже колен. Вес отягощения составлял 50% от максимального результата, показанного в упражнении “становая тяга”. Максимальный вес определялся заранее, не позднее, чем за неделю до исследования. Процедуре определения максимального веса предшествовала разминка и инструктаж по работе с отягощениями. Руководство процессом осуществлял профессиональный тренер инструктор. Перед выполнением статического удержания штанги все испытуемые хорошо разминались. Выполнение упражнения также осуществлялось под руководством инструктора. Удержание штанги производилось до состояния полной усталости и невозможности дальше продолжать упражнение. Время удержания засекалось при помощи секундомера. За состоянием испытуемых наблюдал врач.

В качестве динамической нагрузки для спортсменов легкоатлетов (ЛА) и волонтеров (КГ2) была использована методика стандартного теста *PWC170* [29]. Тест выполнялся без предварительной разминки. Тест включает в себя двухступенчатую нагрузку с различной мощностью. Первый этап – педалирование на велоэргометре в течение 5 мин с мощностью, которая подбиралась по таблицам в соответствии с массой тела испытуемого. За 15 с до окончания нагрузки производилось измерение частоты сердечных сокращений (ЧСС). Второй этап – отдых в течение 3-х мин. Третий этап – педалирование на велоэргометре в течение 5 мин с мощностью, которая подбиралась по таблицам в зависимости от ЧСС в конце первой нагрузки. За 15 с до окончания нагрузки производилось измерение ЧСС.

Забор крови осуществлялся при помощи вакуумной системы *BD Vacutainer®* (*Greiner Bio-One*, Австрия) трехкратно по 5 мл (до нагрузки – проба А, непосредственно после нагрузки – про-

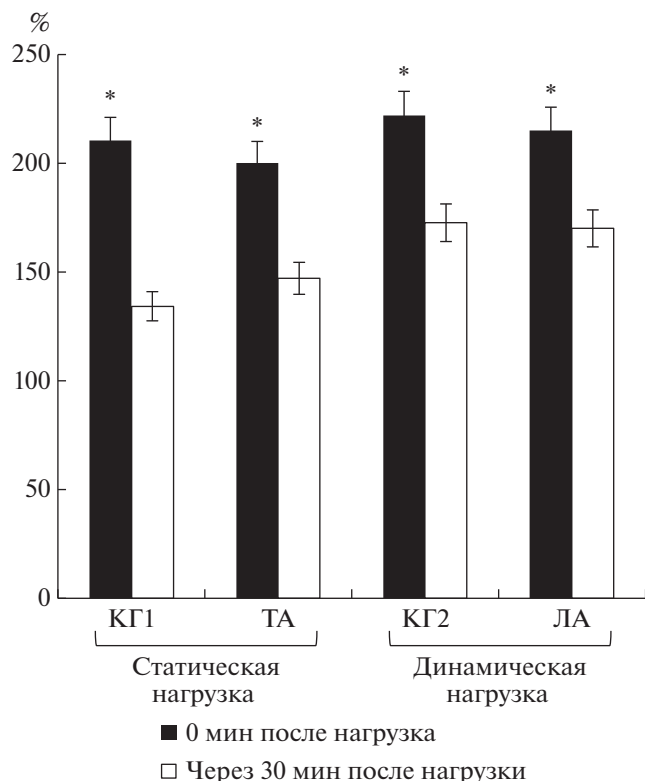
ба В и через 30 мин после нагрузки – проба С). Указанные временные промежутки для забора крови были определены в связи с тем, что по данным литературных источников выработка миокинов может увеличиваться как непосредственно во время физической нагрузки [30], так и через определенные промежутки времени после окончания физического упражнения [11].

Все волонтеры проходили обследование утром натощак. За 1 день до исследования спортсменам было рекомендовано прекратить тренировочный процесс. Использовались пробирки *Vacurette® Premium (Greiner Bio-One, Австрия)* с лития гепарином и разделительным гелем объемом 5 мл. Концентрация гепарина в пробирках составила 20 ед/мл. Центрифугирование образцов крови проводилось при помощи лабораторной центрифуги *LMC 3000 (Biosan, Латвия)* через 30 мин после забора крови. Центрифугирование осуществлялось в течение 11 мин при 2000 об./мин. Плазма замораживалась и хранилась в морозильной камере при  $t = -20^{\circ}\text{C}$ , срок хранения – не более 30 суток.

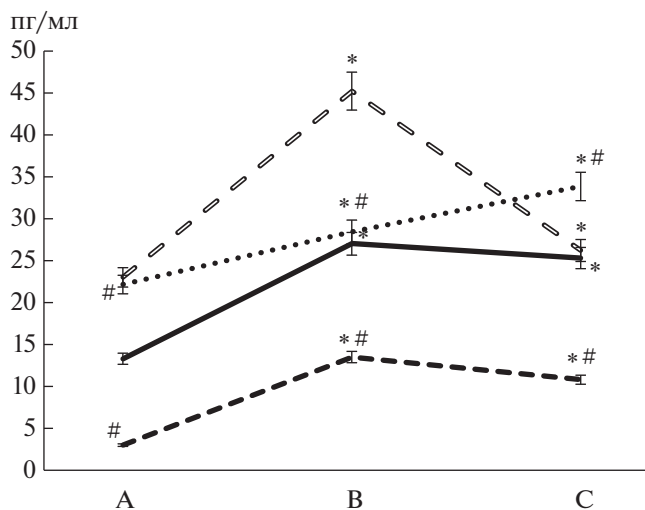
Определение концентрации белков в плазме производилось методом иммуноферментного анализа (ИФА). Были использованы наборы для ИФА с антителами к соответствующим белкам *Platinum: Human LIF Platinum ELISA Kit, Human IL-6 Platinum ELISA Kit, Human IL-8 Platinum ELISA Kit (eBioscience, Австрия)*, а также *RayBio® Human IL-15 ELISA Kit (RayBio®, США)* с приложенными к наборам инструкциями. Все образцы разливались в двух экземплярах. Для анализа использовались планшеты с общим числом плоскодонных лунок 96 (размер планшета 12 × 8 лунок). Инкубация производилась на термошейкере для планшетов *PST-60HL (Biosan, Латвия)*. Процедура промывки осуществлялась при помощи промывочного устройства *Anthos Fluido 2 (Biochrom, Великобритания)*. Измерение оптической плотности образцов проводилось при помощи микропланшетного спектрофотометра *Anthos 2010* с фильтрами (400–750 нм) и программой *ADAP+* (*Biochrom, Великобритания*). Для подготовки стандартов применялось серийное разведение высококонцентрированных растворов белков, прилагаемых в наборах. Расчет оптической плотности образцов производился при длине волны 450 нм, референсная длина волны 620 нм.

Измерение концентрации лактата в капиллярной крови производилось при помощи портативного прибора *Accutrend Plus (Roche Diagnostics, Германия)*.

Статистическая обработка данных проводилась при помощи программы *STATISTICA 8.0*. Оценка на нормальность распределения признаков в группах производилась при помощи критерия Шапиро-Уилка (*Shapiro-Wilks test*). Сравнительный анализ независимых выборок проводился



**Рис. 1.** Изменение уровня лактата после физической нагрузки.  
\* – статистически значимые изменения относительно показателя до нагрузки при  $p < 0.05$ .



**Рис. 2.** Концентрация IL-6 в плазме крови в покое и на фоне физической нагрузки.  
Сплошная линия – контрольная группа 1, линия круглыми точками – группа тяжелоатлетов, двойная штриховка – контрольная группа 2, штриховка – группа легкоатлетов; А – до нагрузки; В – 0 мин после нагрузки; С – через 30 мин после нагрузки; \* –  $p < 0.05$ , при сравнении с пробой крови А; # –  $p < 0.001$  при сравнении с контролем.

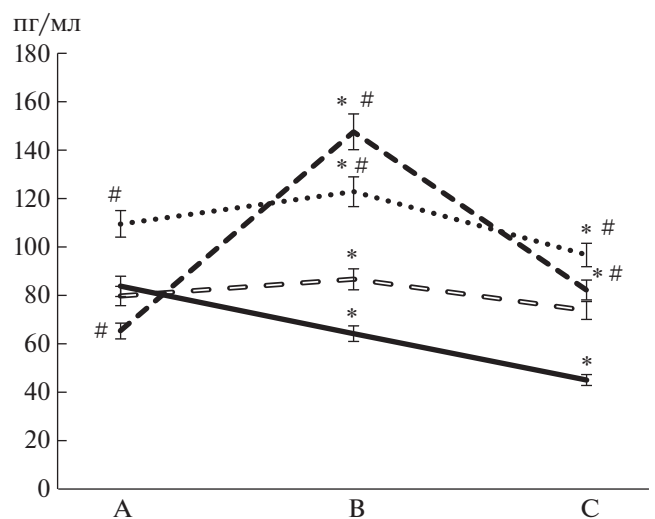
при помощи критерия Манна-Уитни (*Mann-Whitney test*) и зависимых при помощи критерия Вилкоксона (*Wilcoxon test*). За статистически значимое различие принимали  $p < 0.05$ .

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

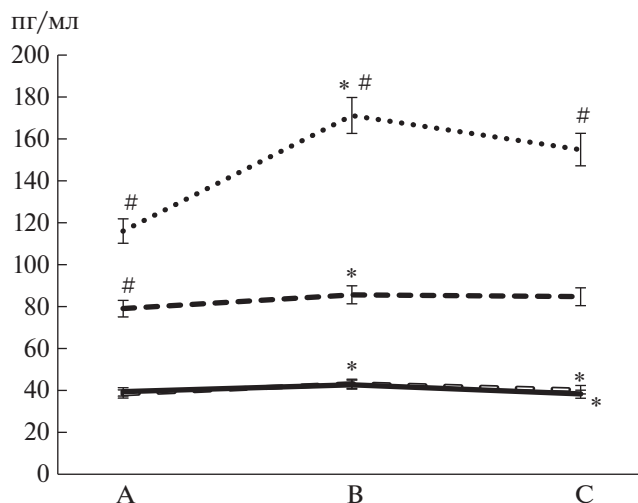
Во всех группах после статической и динамической нагрузки произошло увеличение уровня лактата в крови. В группе легкоатлетов произошло повышение в 2.2 раза. У тяжелоатлетов лактат в крови после статической нагрузки увеличился в 2 раза. В группах контроля после статической и динамической нагрузки также произошло увеличение в 2.1 и в 2.3 раза соответственно. Через 30 мин во всех группах наблюдалось восстановление молочной кислоты к первоначальному уровню. Результаты изменения уровня лактата в венозной крови представлены на рис. 1. Эти результаты позволяют считать, что уровень нагрузки у всех испытуемых лиц был одинаковым, и выявляемые различия в продукции миокинов обусловлены именно характером предъявляемой нагрузки и характером предварительных тренировок.

*Влияние статической нагрузки на продукцию миокинов.* В группе тяжелоатлетов, после статической нагрузки произошло увеличение концентрации в плазме IL-6 примерно на 25%. При этом в КГ1 после статической нагрузки произошло двукратное увеличение содержания IL-6 (рис. 2). Через 30 мин после выполнения упражнения, содержание в плазме IL-6 оставалось повышенным у спортсменов.

После статического упражнения было выявлено небольшое повышение концентрации IL-8 в



**Рис. 3.** Концентрация IL-8 в плазме крови в покое и на фоне физической нагрузки.  
Обозначения см. рис. 2.



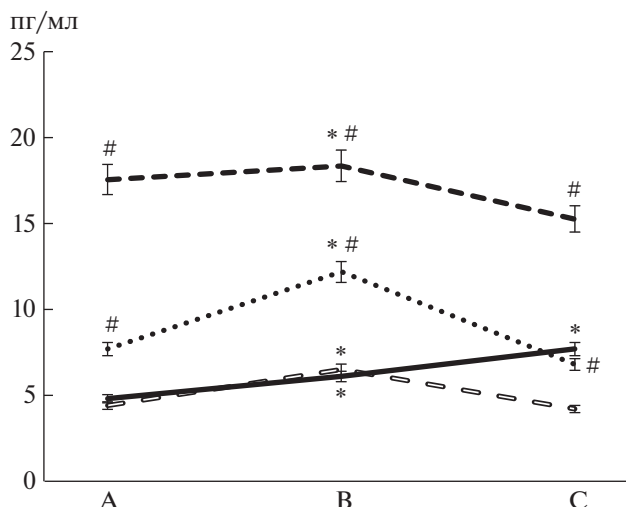
**Рис. 4.** Концентрация *IL-15* в плазме крови в покое и на фоне физической нагрузки. Обозначения см. рис. 2.

плазме спортсменов (от  $109.93 \pm 1.63$  до  $123.29 \pm 2.92$  пг / мл), в то время как в КГ1 после статического усилия произошло снижение уровня *IL-8* на 25% (рис. 3).

Концентрация *IL-15* у тяжелоатлетов после статического усилия значительно увеличилась — на 47.4% (рис. 4). При этом в группе контроля после статического упражнения не обнаружено значительного увеличения содержания данного белка ( $38.96 \pm 2.52$  и  $42.31 \pm 1.75$  пг / мл). Повышенный уровень *IL-15* в плазме сохранился через 30 мин после статической нагрузки у спортсменов-тяжелоатлетов.

У спортсменов-тяжелоатлетов и нетренированных лиц статические упражнения привели к увеличению в плазме концентрации *LIF* на ~60% и 30% соответственно (рис. 5). Следует отметить, что через 30 мин после упражнения концентрация *LIF* в плазме в группе контроля увеличилась с  $6.12 \pm 1.99$  до  $7.69 \pm 1.13$  пг/мл, в то время как у спортсменов этот показатель снизился с  $12.24 \pm 1.66$  до  $6.82 \pm 1.68$  пг/мл ( $p < 0.05$ ), т.е. практически до исходного значения ( $7.73 \pm 1.77$  пг/мл).

*Влияние динамической нагрузки на продукцию миокинов.* После завершения динамического упражнения содержание *IL-6* в плазме крови увеличилось более чем в четыре раза у спортсменов легкоатлетов (рис. 2), но его концентрация ( $13.50 \pm 1.63$  пг/мл) была значительно ниже, чем в КГ2, т.е. у волонтеров, выполнивших аналогичную динамическую нагрузку ( $45.25 \pm 1.26$  пг/мл). Через 30 мин после выполнения упражнения, содержание в плазме *IL-6* практически полностью нормализовалось у добровольцев, выполнивших динамическую нагрузку.



**Рис. 5.** Концентрация *LIF* в плазме крови в покое и на фоне физической нагрузки. Обозначения см. рис. 2.

У легкоатлетов после динамической нагрузки также выявлено увеличение в плазме концентрации *IL-8* примерно в два раза, при этом динамическая нагрузка не оказала значительного влияния на концентрацию белка в КГ2 (рис. 3). Через 30 мин после упражнения концентрация *IL-8* снижалась приблизительно в два раза в группе спортсменов-легкоатлетов, в то время как в других группах его содержание снизилось менее чем на 25% (рис. 3).

В отличие от статической нагрузки, упражнения циклического характера не оказали значительного влияния на изменение уровня *IL-15* в группе легкоатлетов и в контрольной группе (рис. 4). Динамические упражнения также не оказали значительного влияния на изменение концентрации *LIF* в плазме у легкоатлетов. В то время как в группе контроля после динамической нагрузки произошло увеличение примерно на 35% (рис. 5).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные нами результаты позволяют сделать два основных вывода. Во-первых, влияние статических и динамических упражнений на содержание в плазме цитокинов значительно различается. Длительные динамические упражнения вызывают увеличение содержания *IL-6* и *IL-8* в плазме спортсменов, что согласуется с рядом публикаций [5, 6, 31]. В отличие от динамических, статические нагрузки оказывают незначительное влияние на содержание этих цитокинов у спортсменов силовых видов спорта (рис. 1 и 2). В то же время упражнения на выносливость не оказали существенного влияния на концентрацию *IL-15* и *LIF*, в то время как статическая нагрузка приво-

дит к увеличению уровня этих цитокинов в плазме на 50% (рис. 3 и 4).

Во-вторых, как динамические, так и статические упражнения по-разному влияют на содержание цитокинов в плазме крови спортсменов и нетренированных лиц. Так, у спортсменов после циклической нагрузки наблюдалось двукратное увеличение концентрации *IL-8* в плазме, тогда как у нетренированных лиц подобная реакция отсутствовала (рис. 2). Увеличение *IL-15*, вызванное статической нагрузкой в плазме спортсменов-тяжелотлетов, не наблюдалось в контрольной группе (рис. 3). Эти факты можно объяснить адаптационными изменениями в организме спортсменов, вызванными регулярными физическими нагрузками [13, 28].

Особенности влияния динамической и статической нагрузки на продукцию миокинов у спортсменов и нетренированных юношей могут быть связаны с различиями в клеточном составе мышц. Скелетная мышца весьма гетерогенна — кроме миоцитов она содержит целый ряд клеток — фибробласты, перициты, адипоциты, чей вклад в общий объем производства цитокинов определен недостаточно [28]. Относительное содержание этих клеток, а также их воздействие на вызванную физической нагрузкой продукцию цитокинов может отличаться у спортсменов и нетренированных лиц. В дополнение к гетерогенности ткани, было показано, что скелетные миоциты могут быть подразделены на 3 различных фенотипа, каждый из которых имеет свои особенности биоэнергетических механизмов [32].

Еще один механизм, обеспечивающий описанные различия, может быть связан с особенностями транскрипционных механизмов. Показано, что транскрипционные изменения при сокращении мышц наиболее выражены в быстро сокращающихся мышечных волокнах типа IIa [33], что также, несомненно, отражается на интенсивности продукции миокинов.

Фактор, индуцируемый гипоксией  $1\alpha$  (*HIF-1\alpha*), сАМР- и  $Ca_i^{2+}$  зависимые фосфопроteinкиназы, а также соотношение концентраций одновалентных катионов ( $[Na^+]_i/[K^+]_i$ ) обеспечивают передачу сигналов и участвуют в образовании транскрипционных связей в клетках скелетных мышц [34, 35]. *HIF-1\alpha* транслоцируется в ядро, где образует *HIF-1\alpha/HIF-1\beta* комплекс и триггеры транскрипции десятков генов, в том числе фактора роста эндотелия сосудов (*VEGF*) и эндотелиальной синтазы окиси азота (*eNOS*) [36]. Важно отметить, что в отличие от динамической нагрузки, силовые упражнения приводят к окклюзии кровеносных сосудов и локальной гипоксии, что сопровождается накоплением *VEGF* и *eNOS* mRNA в скелетной мышце крысы [37]. Однако роль это-

го пути в регулировании продукции цитокинов еще не изучена.

Роль *АМРК* в продукции миокинов, вызванной физической нагрузкой, подтверждается данными, свидетельствующими, что выработка *IL-15* была снижена у мышцей, лишенных  $\beta 1$  и  $\beta 2$  субъединиц *АМРК* в скелетных мышцах [38]. Фосфорилирование *АМРК* увеличивается в мышцах после езды на велосипеде у спортсменов силовых видов спорта, но подобной реакции не выявлено у спортсменов, тренирующихся на выносливость [26]. Следует отметить, однако, что экспрессия *IL-6* при мышечном сокращении была нормальной у нокаутных мышцей, лишенных *АМРК*  $\alpha 2$  гена [39].

Повышение концентрации внутриклеточного кальция от  $\sim 0.1$  до  $1 \mu M$  при сокращении влияет на экспрессию многих генов, т.е. является важным фактором запуска транскрипционных механизмов [34, 40, 41]. Введение крысам в камбаловидную мышцу  $Ca^{2+}$  — ионофора иономицина в течение одного часа приводит к пятикратному увеличению *IL-6* mRNA [42]. Воздействие на *C2C12* миобласты  $Ca^{2+}$  ионофором *A23187* резко увеличивало транскрипцию *IL-6* mRNA [43]. Используя ту же модель упражнений *in vitro*, было показано, что внеклеточный  $Ca^{2+}$  хелатор *EGTA* снижает в два раза накопление *CXL* при электрической стимуляции [44].

Возбуждение миоцитов сопровождается изменением трансмембранного градиента одновалентных катионов вследствие притока  $Na^+$  и оттока  $K^+$  через потенциал-зависимые и  $Ca^{2+}$  — чувствительные ионные каналы. В мышечных клетках человека и экспериментальных животных длительные упражнения приводят к увеличению  $[Na^+]_i$  в 3–4 раза и снижению  $[K^+]_i$  на 50%, что сопровождается повышением  $[K^+]_i$  в плазме и межклеточной жидкости [45–49]. Это позволяет предположить, что увеличение соотношения  $[Na^+]_i/[K^+]_i$  является фактором, стимулирующим продукцию миокинов [35]. В некоторых типах клеток повышение соотношения  $[Na^+]_i/[K^+]_i$  приводило к экспрессии mRNA ряда цитокинов, в том числе *IL-6* [50].

Для оценки относительного вклада  $Ca_i^{2+}$  опосредованного и  $Ca_i^{2+}$  —независимого сигнальных путей мы сравнили транскриптомные изменения при увеличении соотношения  $[Na^+]_i/[K^+]_i$  в клетках, обедненных кальцием, и обнаружили увеличение количества специфических  $[Na^+]_i/[K^+]_i$  — чувствительных генов [48]. Среди  $[Na^+]_i/[K^+]_i$  — чувствительных генов, активируемых независимо от наличия хелатов  $Ca^{2+}$ , был обнаружен ген миокина *IL-6*. Недавно также было выявлено, что

внеклеточные хелаты  $\text{Ca}^{2+}$  значительно увеличивают проницаемость мембраны для одновалентных ионов, что приводит к повышению  $[\text{Na}^+]_i/[\text{K}^+]_i$  соотношения [51]. Мы также показали, что в клетках гладких мышц сосудов гипоксия-индуцированные транскрипционные изменения, по меньшей мере, частично вызваны *HIF-1 $\alpha$* -независимыми,  $[\text{Na}^+]_i/[\text{K}^+]_i$  – опосредованными, транскрипционными связями [52].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подводя итоги, следует отметить, что спектр вырабатываемых миокинов зависит от характера нагрузок и уровня тренированности. Динамические и статические упражнения по-разному влияют на содержание миокинов в плазме крови спортсменов и нетренированных лиц. Физическая нагрузка циклического характера приводит к увеличению содержания *IL-6* и *IL-8* в плазме у спортсменов, нагрузка статического характера – к увеличению концентрации *IL-15* и *LIF*. В то же время в контрольной группе не регистрировалось увеличение содержания *IL-8* после циклической нагрузки и *IL-15* – после статической нагрузки.

Обнаруженные различия могут иметь в своей основе целый ряд механизмов. Клеточный состав скелетных мышц и фенотипические особенности мышечных волокон, изменяясь в результате регулярных тренировок, могут модифицировать процессы продукции миокинов. Однако гораздо большее значение играют особенности транскрипционных механизмов в мышечных волокнах, среди которых наиболее значимыми являются *HIF-1 $\alpha$* ,  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ,  $[\text{Na}^+]_i/[\text{K}^+]_i$  – зависимые пути внутриклеточной сигнализации. Модификация этих механизмов под влиянием физических нагрузок различного характера и интенсивности представляет значительный интерес, так как является перспективным путем воздействия на процессы метаболизма как на клеточном, так и на системном уровне, что весьма актуально как для повышения спортивных результатов, так и для коррекции метаболических расстройств при целом ряде социально-значимых заболеваний.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (Проект № 16-15-10026).

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Frontera W.R., Ochala J. Skeletal muscle: a brief review of structure and function // *Calcif. Tissue Int.* 2015. № 96. P. 183.
2. Sprenger H., Jacobs C., Nain M. et al. Enhanced release of cytokines, interleukin-2 receptors, and neopterin after long-distance running // *Clin Immun. Immunopathol.* 1992. № 63. P. 188.
3. Drenth J.P., Van Uum S.H., van Deuren M. et al. Endurance run increases circulation IL-6 and IL-1ra but downregulates ex vivo TNF- $\alpha$  and IL-1 $\alpha$  production // *J. Appl. Physiol.* 1995. № 79. P. 1497.
4. Nehlsen-Cannarella S.L., Fagoaga O.R., Nieman D.C. et al. Carbohydrate and the cytokine response to 2.5 h of running // *J. Appl. Physiol.* 1997. № 82. P. 1662.
5. Ostrowski K., Ronde T., Asp S. et al. Pro- and anti-inflammatory cytokine balance in strenuous exercise in humans // *J. Physiol.* 1999. № 515. P. 287.
6. Steensberg A., van Hall G., Osada T. et al. Production of interleukin-6 in contracting human skeletal muscles can account for the exercise-induced increase in plasma interleukin-6 // *J. Physiol.* 2000. № 529. P. 237.
7. Keller C., Steensberg A., Pilegaard H. et al. Transcriptional activation of the IL-6 gene in human contracting skeletal muscle: influence of muscle glycogen content // *FASEB J.* 2001. № 15. P. 2748.
8. Nedachi T., Fujita H., Kanzaki M. Contractile C2C12 myotube model for studying exercise-inducible responses in skeletal muscle // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2008. № 295. P. E1191.
9. Lambernd S., Taube A., Schober A. et al. Contractile activity of human skeletal muscle cells prevents insulin resistance by inhibiting pro-inflammatory signaling pathways // *Diabetologia.* 2012. № 55. P. 1128.
10. Nikolic N., Bakke S.S., Kase E.T. et al. Electrical pulse stimulation of cultured human skeletal muscle cells as an in vitro model of exercise // *PLoS One.* 2012. № 7. e33203.
11. Scheler M., Irmeler M., Lehr S. et al. Cytokine response of primary human myotubes in an in vitro exercise model // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2013. № 305. P. C877.
12. Капилевич Л.В., Кабачкова А.В., Захарова А.Н. и др. Секреторная функция скелетных мышц: механизмы продукции и физиологические эффекты миокинов // *Успехи физиологических наук.* Т. 47. № 2. С. 7.
13. Pedersen B.K., Febbraio M.A. Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6 // *Physiol. Rev.* 2008. № 88. P. 1379.
14. Iizuka K., Machida T., Hirafuji M. Skeletal muscle is an endocrine organ // *J. Pharmacol. Sci.* 2014. № 125. P. 125.
15. Pedersen B.K., Febbraio M.A. Muscles, exercise and obesity: skeletal muscle as a secretory organ // *Nat. Rev. Endocrinol.* 2012. № 8. P. 457.
16. Шварц В. Регуляция метаболических процессов интерлейкином-6 // *Цитокины и воспаление.* 2009. № 3. С. 3.
17. Pedersen B.K., Steensberg A., Fischer C. et al. Searching for the exercise factor: is IL-6 a candidate // *J. Muscle. Res. Cell. Motil.* 2003. V. 24. № 2–3. P. 113.
18. Pedersen B.K., Fischer C.P. Beneficial health effects of exercise: the role of IL-6 as a myokine // *Trends Pharmacol. Sci.* 2007. № 28. P. 152.
19. Quinn L.S., Strait-Bodey L., Anderson B.G. et al. Interleukin-15 stimulates adiponectin secretion by 3T3-L1 adipocytes: evidence for a skeletal muscle-to-fat signaling pathway // *Cell Biol. Int.* 2005. № 29. P. 449.



20. Broholm C., Pedersen B.K. Leukemia inhibitory factor – an exercise-induced myokine // *Exerc. Immunol. Rev.* 2010. № 16. P. 77.
21. Srikuea R., Esser K.A., Pholpramool C. Leukemia factor is expressed in rat gastrocnemius muscle after contusion and increases proliferation of rat L6 myoblasts via c-Myb signaling // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2011. № 38. P. 501.
22. Pedersen B.K., Saltin B. Exercise as medicine – evidence for prescribing exercise as therapy in 26 different chronic diseases // *Scand. J. Med. Sci. Sports.* 2015. № 25. P. 1.
23. Ochi E., Nakazato K., Ishii N. Muscular hypertrophy and changes in cytokine production after eccentric training in the rat skeletal muscle // *J. Strength Cond Res.* 2011. № 25. P. 2283.
24. Karamouzis M., Landberg H., Skovgaard D. et al. In situ microdialysis of intramuscular prostaglandin and thromboxane in contracting skeletal muscle in humans // *Acta Physiol. Scand.* 2001. № 171. P. 71.
25. Louis E., Raue U., Yang Y. et al. Time course of proteolytic, cytokine, and myostatin gene expression after acute exercise in human skeletal muscle // *J. Appl. Physiol.* 2007. № 103. P. 1744.
26. Coffey V.G., Zhong Z., Shield A. et al. Early signaling responses to divergent exercise stimuli in skeletal muscle from well-trained humans // *FASEB J.* 2006. № 20. P. 190.
27. Egan B., Zierath J.R. Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation // *Cell Metab.* 2013. № 17. P. 162.
28. Peake J.M., Gatta P.D., Suzuki K., Nieman D.C. Cytokine expression and secretion by skeletal muscle cells: regulatory mechanisms and exercise effects // *Exercise Immunol. Rev.* 2015. № 21. P. 8.
29. Svannshvili R.A., Sopromadze Z.G., Kakhbrishvili Z.G. et al. Athletes' physical working capacity // *Georgian Medical News.* 2009. № 166. P. 68.
30. Broholm C., Laye M.J., Brandt C. et al. LIF is a contraction-induced myokine stimulating human myocyte proliferation // *J. Appl. Physiol.* 2011. V. 111. № 1. P. 251.
31. Fisher C.P. Interleukin-6 in acute exercise and training: what is the biological relevance? // *Exercise Immunol. Rev.* 2006. № 12. P. 6.
32. Fitts R.H., Widrick J.J. Muscle mechanics: adaptations with exercise-training // *Exercise and sport sciences reviews* / Ed. J.O. Holloszy. Williams & Wilkins. 1996. V. 24. P. 427.
33. Raue U., Trappe T.A., Estrem S.T. et al. Transcriptomic signature of resistance exercise adaptations: mixed muscle and fiber type specific profiles in young and old adults // *J. Appl. Physiol.* 2012. № 112. P. 1625.
34. Gundersen K. Excitation-transcription coupling in skeletal muscle: the molecular pathways of exercise // *Biol. Rev.* 2011. № 86. P. 564.
35. Kapilevich L.V., Kironenko T.A., Zaharova A.N. et al. Skeletal muscle as an endocrine organ: role of  $[Na^+]_i/[K^+]_i$ -mediated excitation-transcription coupling // *Genes & Diseases.* 2015. № 2. P. 328.
36. Ke Q., Costa M. Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) // *Mol. Pharmacol.* 2006. № 70. P. 1469.
37. Rodriguez-Miguel P., Lima-Cabello E., Martinez-Florez S. et al. Hypoxia-inducible factor-1 modulates the expression of vascular endothelial growth factor and endothelial nitric oxide synthase induced by eccentric exercise // *J. Appl. Physiol.* 2015. № 118. P. 1075.
38. Crane J.D., MacNeil L.G., Lally J.S. et al. Exercise-stimulated interleukin-15 is controlled by AMPK and regulates skin metabolism and aging // *Aging Cell* in press. 2015. V. 14. № 4. P. 625.
39. Lauritzen H.P., Brandauer J., Schjerling P. et al. Contraction and AICAR stimulate IL-6 vesicle depletion from skeletal muscle fibers in vivo // *Diabetes.* 2013. № 62. P. 3081.
40. Ma H., Groth R.D., Wheeler D.G. et al. Excitation-transcription coupling in sympathetic neurons and the molecular mechanism of its initiation // *Neurosci. Res.* 2011. № 70. P. 2.
41. Santana L.F. NFAT-dependent excitation-transcription coupling in heart // *Circ. Res.* 2008. № 103. P. 681.
42. Holmes A.G., Watt M.J., Carey A.L., Febbraio M.A. Ionomycin, but not physiological doses of epinephrine, stimulates skeletal muscle interleukin-6 mRNA expression and protein release // *Metabolism.* 2004. № 53. P. 1492.
43. Whitham M., Chan M.H.S., Pal M. et al. Contraction-induced interleukin-6 gene transcription in skeletal muscle is regulated by c-Jun terminal kinase/activator protein-1 // *J. Biol. Chem.* 2012. № 287. P. 10771.
44. Nedachi T., Hatakeyama H., Kono T. et al. Characterization of contraction-inducible CXC chemokines and their roles in C2C12 myocytes // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2009. № 297. P. E866.
45. Sejersted O.M., Sjogaard G. Dynamics and consequences of potassium shifts in skeletal muscle and heart during exercise // *Physiol. Rev.* 2000. № 80. P. 1411.
46. McDonough A.A., Thompson C.B., Youn J.H. Skeletal muscle regulates extracellular potassium // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2002. № 282. P. F967.
47. McKenna M.J., Bangsbo J., Renaud J.M. Muscle  $K^+$ ,  $Na^+$ , and  $Cl^-$  disturbances and  $Na^+-K^+$  pump inactivation: implications for fatigue // *J. Appl. Phys.* 2008. № 104. P. 288.
48. Murphy K.T., Nielsen O.B., Clausen T. Analysis of exercise-induced  $Na^+-K^+$  exchange in rat skeletal muscle // *Exp. Physiol.* 2008. № 93. P. 1249.
49. Cairns S.P., Lindinger M.I. Do multiple ionic interactions contribute to skeletal muscle fatigue? // *J. Physiol.* 2008. № 586. P. 4039.
50. Koltsova S.V., Trushina Y., Haloui M. et al. Ubiquitous  $[Na^+]_i/[K^+]_i$ -sensitive transcriptome in mammalian cells: evidence for  $[Ca^{2+}]_i$ -independent excitation-transcription coupling // *PLoS One.* 2012. № 7. e38032.
51. Koltsova S.V., Tremblay J., Hamet P., Orlov S.N. Transcriptomic changes in  $Ca^{2+}$ -depleted cells: role of elevated intracellular  $[Na^+]_i/[K^+]_i$  ratio // *Cell Calcium.* 2015. № 58. P. 317.
52. Koltsova S.V., Shilov B., Burulina J.G. et al. Transcriptomic changes triggered by hypoxia: evidence for HIF-1 $\alpha$ -independent,  $[Na^+]_i/[K^+]_i$ -mediated excitation-transcription coupling // *PLoS One.* 2014. № 9. e110597.



## Changes in the Plasma Levels of Myokines after Different Physical Exercises in Athletes and Untrained Persons

L. V. Kapilevich\*, A. N. Zakharova, A. V. Kabachkova, T. A. Kironenko, E. Yu. Dyakova, S. N. Orlov

\*E-mail: kapil@yandex.ru

We studied the influence of dynamic and static load on the plasma level of myokines in strength- and endurance-trained athletes and untrained subjects. We found that the range of myokines depends on the type of loads and the level of fitness. Dynamic and static exercises have different effects on the level of myokines in athletes and untrained subjects. The dynamic load increases the level of IL-6 and IL-8 in the plasma of athletes, while the static load increases the concentration of IL-15 and LIF. At the same time, no increase in the level of IL-8 after cyclic loading or of IL-15 after a static load was observed in the control group. These differences may be based on a number of mechanisms. The cellular composition of skeletal muscles and the phenotypic features of muscle fibers changed as a result of regular exercise can modify the expression of myokines. However, the processes of transcription in muscle fibers are much more important; the most important ones are HIF-1 $\alpha$ , [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> and [Na<sup>+</sup>]<sub>i</sub>/[K<sup>+</sup>]<sub>i</sub>-dependent intracellular signaling pathways. The modification of these mechanisms caused by different physical loads and intensity is of great interest. With the use of these mechanisms, we can influence the metabolic processes at the cellular and systemic levels, which is very helpful for both improving athletic performance and the correction of metabolic disorders in a number of socially significant diseases.

*Keywords:* myokines, interleukins, leukemia, inhibitory factor, dynamic and static exercise, athletes.